Lane Medical Library

Aus der Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim.
Damaliger Vorstand: Direktor Dr. W. Ernst.

Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit des Maul- und Klauenseuche-Virus in trockenem Zustand und unter anderen Verhältnissen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines doktor medicinae veterinariae der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München,
vorgelegt von

Paul Schlumprecht,
wissenschaftlicher Hilfsarbeiter an der Veterinärpolizeilichen Anstalt
(in Oberschleißheim).

München 1929.

Druck von J. Gotteswinter, München.

Aus der Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim.
Damaliger Vorstand: Direktor Dr. W. Ernst.

Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit des Maul- und Klauenseuche-Virus in trockenem Zustand und unter anderen Verhältnissen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines doktor medicinae veterinariae der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München,
vorgelegt von

Paul Schlumprecht,
wissenschaftlicher Hilfsarbeiter an der Veterinärpolizeilichen Anstalt
(in Oberschleißheim).

München 1929.

Druck von J. Gotteswinter, München.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München,
Referent: Prof. Dr. Ernst.

Meiner lieben Mutter!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153312_0165

Die Resistenz der pathogenen Erreger ist nicht nur von wissenschaftlicher, sondern auch von erhöhter praktischer Bedeutung. Die Ergebnisse der wissenschaftlichen Untersuchungen bieten die Grundlage für die Bekämpfung nicht nur deshalb, weil vielfach die Übertragungsmöglichkeiten sowie die Wirkung der Sperren mit abhängt von der Resistenz der Seuchenerreger und ihrer Widerstandskraft gegen Desinfektionsmittel, sondern auch weil die Resistenz wieder bei der Abschwächung lebender Erreger zum Zwecke der Gewinnung von (aktiven) Impfstoffen eine maßgebende Rolle spielt. Die aktive Immunisierung wird ja bekanntlich auf Grund eingehender Resistenz- und Virulenzstudien teils mit lebenden oder schonend abgeschwächten, teils mit abgetöteten Kulturen erreicht. Seit 1881 hat die Veröffentlichung der Kochschen Versuche über die Abtötung von Bakterien, namentlich Milzbrand, durch Wasserdampf, H_2SO_3-Dämpfe usw. den Fingerzeig dafür gegeben, daß die Ergründung der Resistenz der Infektionserreger Grundbedingung für den Aufbau und die Entwicklung der Desinfektionslehre ist. In der Folge wurden alle damals bereits bekannten Kleinlebewesen im Hinblick auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen natürliche und künstliche Einflüsse geprüft.

Mit Bekanntwerden der filtrierbaren Erreger und der eingehenden Erforschung ihrer Resistenzverhältnisse erwies sich, daß die filtrierbaren Keime im allgemeinen eine größere Resistenz gegenüber fremden Einflüssen besitzen als die nicht filtrierbaren, und daß sie auch unter sich — gemeinsam mit den nichtfiltrierbaren Keimen — erhebliche Resistenzunterschiede aufweisen.

Das Studium dieser Frage ist besonders erschwert durch den Umstand, daß mit Ausnahme der Lungenseucheerreger eine Kultivierung und Reindarstellung dieser Erreger nicht gelungen ist. Man hat bei den Resistenzprüfungen daher stets mit der Wirkung von Schutzkolloiden sowie mit Wirkungen der Desinfektionsmittel auf das Medium, mit Ausfällungen und Adsorptionen zu rechnen.

K. F. Meyer [Berkeley] (Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 1916, S. 374) konnte die Erreger der afrikanischen Pferdesterbe sowie die des Epithelioma contagiosum lange Zeit in Gläsern am Leben erhalten. Meyer teilt mit, daß das Virus der Pocken, der Geflügelpest, der perniziösen Anämie widerstandsfähiger ist gegen Austrocknen, während die Erreger der Rinderpest und der Maul- und Klauenseuche in kurzer Zeit ihre Virulenz verlieren. Nach Meyer vernichten Temperaturen von 60° die meisten filtrierbaren Erreger und schwächen einige ab.

Im speziellen sei hier kurz auf die Resistenz der Lungenseucheerreger hingewiesen. Nach Titze, Giese und Wedemann (A. a. d. R.-G.-A., 53. Bd., 1923, S. 711 und S. 800) war es möglich den Erreger der Lungenseuche aus mehrere Tage altem, stark gefaultem, stinkendem Material verseuchter Tiere zu züchten. Ferner hielten sich 59 Tage alte, bei Zimmertemperatur im Dunkeln mit Wattestopfen verschlossene bis auf zwei Drittel eingedunstete in 6 %iger Rinderserum-Martin-Bouillon befindliche Kulturen in lebensfähigem Zustand, während nach 80 Tagen der Erreger abgestorben war. In mit Paraffin. liquid. überschichteten 62 Tage alten Martin-Bouillonkulturen, die im Dunkeln im Kühlraum aufbewahrt wurden, war der Erreger noch vermehrungsfähig. Auch in zugeschmolzenen Martin-Bouillonröhrchen war der Erreger nach 6 Wochen noch am Leben. Seidenfäden und Glasperlen wurden mit 4mal 48 Stunden alten Kulturen übergossen, mehrere Stunden stehen gelassen, dann aus der Flüssigkeit entnommen, über Chlorkalzium 60 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln getrocknet und einige in Bouillon gebracht. Die Erreger an Seidenfäden keimten in 2mal 24 Stunden aus, jene auf Glasperlen scheinen stärker geschwächt worden zu sein und wuchsen erst in sichtbarer Trübung nach 4mal 48 Stunden. Die so hergestellten Testobjekte wurden längere Zeit in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrt. Bei der Prüfung nach 5 Monaten waren an je 3 Seidenfäden noch lebensfähige Keime, während an den 3 an Glasperlen haftenden Keimen nur in einem Falle noch Wachstum erreicht werden konnte. An Batistläppchen 12 Stunden lang bei 37° angetrocknete Keime in Martin-Bouillon gebracht, waren innerhalb 3 Tagen gewachsen. Nach 15 Tage langem Auf-

bewahren waren sie auch noch lebensfähig, während nach 36 Tagen die Läppchen keine vermehrungsfähigen Keime mehr enthielten. Auch bei im Vakuum eingetrockneten Bouillonkulturen und über Chlorkalzium aufbewahrten Erregern konnte Lebensfähigkeit bis zum 105. Tage nachgewiesen werden. Die Resistenz des Erregers der Lungenseuche ist somit eine ziemlich hohe.

Ähnliche Verhältnisse sind bei der Resistenz des Wutvirus zu beobachten. Nach Babes-Puscarin erfährt das Wutvirus durch Erwärmen auf 56—58 ° eine Virulenzabschwächung. Virus fixe, emulsioniert und 40 Minuten auf 58 ° gehalten, tötet Kaninchen nicht mehr. Auch gegen Austrocknen zeigt es hohe Resistenz. Nach den Erfahrungen der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim ist 270 Tage lang in Glycerinum purum bei einer Temperatur von 4 bis 5 ° im Dunkeln gehaltenes Virus der Tollwut noch höchstvirulent für Meerschweinchen.

Die Glyzerinfestigkeit des Virus konnte auch für den Erreger der Bornaschen Krankheit von Zwick und Seifried und der Veterinärpolizeilichen Anstalt bestätigt werden. Bei den Versuchen erwies sich Pferdegehirnglyzerinvirus nach 60 Tagen Aufenthalt im Kühlraum (4—5 °) bei Dunkelheit noch sehr virulent für Kaninchen.

Eine geringe Resistenz gegen Austrocknung besitzt nach Landsteiner und Levaditi das Virus der Poliomyelitis der Affen. In über Ätzkali getrocknetem Mark verloren die Erreger ihre Virulenz nach 15 Tagen der Trocknung.

Die Widerstandsfähigkeit der filtrierbaren Infektionserreger übertrifft in der Regel die Resistenz der meisten Bakterien. Unter günstigen Umständen in ihren natürlichen Substraten (Blut, Organe) aufbewahrt, geschützt vor Licht und höheren Temperaturen, eingeschlossen in sterilen Glaskapillaren oder in getrocknetem Zustand können verschiedene filtrierbare Erreger monatelang, selbst 1—2 Jahre (Virus der Taubenpocken) ihre Virulenz vollkommen bewahren.

Nach Lipschütz (Kolle-Wassermann [1912]: Handbuch der pathologischen Mikroorganismen, Bd. VIII) sind die speziellen Verhältnisse folgende: der Austrocknung widerstehen viele filtrierbare Erreger vorzüglich.

Paschen konnte mit 220 Tage alten, bei Zimmertemperatur aufbewahrten Vaccineborken mit Erfolg impfen; in früherer Zeit wurde bekanntlich die Lymphe durch Austrocknen konserviert. Der Erreger der Tabakmosaikkrankheit verträgt mehrmonatliches Eintrocknen (Beijerink-Iwanovski). Über Ätzkali bei 22° getrocknetes Rückenmark von Hühnerpest hatte nach 20 Tagen seine Virulenz bewahrt (Kraus, Schiffmann). Mit getrocknetem Taubenpockenvirus konnte noch nach 1½ Jahren infiziert werden. Hingegen gehen die Erreger der Rinderpest in einigen Tagen zugrunde bei Eintrocknung.

Höhere und niedere Temperaturen werden von den filtrierbaren Infektionserregern gut vertragen. Das Vaccinevirus verträgt wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen (Paschen) und —180° 11 Wochen lang (Power). Bei Brutschranktemperatur und in den Tropen wird die Vaccinelymphe rasch ihrer Virulenz verlustig, in getrocknetem Zustand erweist sie sich der Wärme gegenüber widerstandsfähiger. Temperaturen von 48° und namentlich von 60° wirken bei den meisten filtrierbaren Erregern schon nach kurzer Zeit sicher abtötend (Schafpockenvirus und Tollwut). Nach Marx und Sticker wird vom Taubenpockenvirus 3stündiges Erwärmen auf 60° und selbst 1stündiges Kochen bei 100° vertragen. Der Erreger der Tabakmosaikkrankheit soll (nach Berjevink) erst zwischen 70 und 80° vernichtet werden. Provazec bezeichnet bei Hühnerpest zwei verschieden resistente Virus. Einmal Virus aus der Leber, welches in 30 Minuten bei 62° zugrunde geht, während Virus in Gehirnemulsion 4 Stunden 65—68° verträgt, also thermostabiler ist.

Besonders wissenwert und größtenteils ungeklärt ist die Resistenzfrage der ultravisiblen Erreger.

Das Virus der Schweinepest hat nach Uhlenhuth, Haendel, Gildemeister u. Scherm (Arb. a. d. R. G.-A., Bd. 47, H. 2) in virushaltigem Serum nach 24stündigem Erwärmen auf 45° und auf 46,5° seine Virulenz bewahrt, sie aber nach 48 Stunden bei 46° und nach 24 Stunden bei 55° sowie nach 10 Stunden bei 60° verloren. 2stündiges Erhitzen auf 58° ertrug es, durch 1stündiges auf 78° wurde es vernichtet. Nicht abgetötet war es, wenn virushaltiges Blut bei 37° getrocknet und dann zwei

Stunden auf 65° oder virushaltiger Harn 30 oder 40 Minuten auf 58° erhitzt wurde. Dagegen war es wirkungslos, wenn es im Urin 1 Stunde auf 58° oder 65° erwärmt wurde. Im gefrorenen Zustand oder im Eisschrank ist Schweinepestvirus monatelang vollvirulent. Blut und Serum, das mehrere Tage in eine Glasschale bis zur Gewichtskonstanz angetrocknet war oder Blut, das mehrere Tage bei 37° getrocknet war, erwies sich noch als infektionstüchtig. Direktes Sonnenlicht tötete Schweinepestvirus in 5 und 9 Stunden nicht. Fäulnis vernichtete das Virus unter Umständen rasch. Saft von faulen virushaltigen Organen, die 8, 14 und 28 Tage der Fäulnis unterlagen, machte nicht mehr krank.

Über die Resistenz des Maul- und Klauenseucheerregers gehen die Ansichten einzelner Forscher weit auseinander. Im allgemeinen wird die Widerstandskraft des Erregers gegen äußere Einflüsse für gering erachtet. Gegen Eintrocknen und die gebräuchlichen Desinfektionsmittel ist er sehr empfindlich, Kälte kann er gut, Hitze dagegen nicht vertragen. ½stündige Erwärmung auf 65° tötet ihn sicher ab, höhere Temperaturen vernichten ihn in wenigen Minuten [Kolle-Hetsch (1*), 1911].

Nach Hutyra und Marek soll Eintrocknen bei Zimmertemperatur und Tageslicht das Virus in 24 Stunden vernichten. Temperaturen von 37,5° zerstören es in 12 bis 24 Stunden, 50° in 50 Minuten, 70° in 10 Minuten, eine Erwärmung von 100° tötet es sofort nach Löffler und Frosch (2). Sogar durch —8° und —9° soll es nach Peroncito (3) abgetötet werden. Erwärmung der Milch 1 Minute auf 85°, 3 Minuten auf 80°, 15 Minuten auf 75° und 30 Minuten auf 70° vernichtet ihre Infektiosität (Winkler). Ebenso wird die Infektiosität aufgehoben durch Sauerwerden der Milch (Ebertz), durch die Gärung bei der Käsefabrikation (Moussu). In frischem Kuh- und Schweinedünger geht der Infektionsstoff in größerer als 20 cm Tiefe binnen kurzer Zeit zugrunde. Ähnliche Ergebnisse führen Fröhner und Zwick an. Sie erwähnen, daß das Virus im Eisschrank wegen seiner Widerstandskraft gegen niedere Temperaturen monatelang wirksam ist

*) Die in runden Klammern ( ) beigesetzten Ziffern beziehen sich auf die am Schlusse der Arbeit angeführten Literaturangaben.

und daß selbst Temperaturen von — 48° die Virulenz nicht aufheben. Dagegen töten es 60° in 5 Minuten, 50° in 12 Stunden nach Löffler (4).

Kitt (5) faßt in einem Sammelreferat im Jahre 1899 die Frage der Haltbarkeit in folgende Worte zusammen: „Die Haltbarkeit der Lymphe erhöht sich, wenn dieselbe von bakterieller Verunreinigung freigehalten in verdünntem Zustand aufbewahrt wird und zwar am zweckmäßigsten bei Verdünnung mit Glyzerin in dem Verhältnis 1:4 mit einer aus reinem Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen hergestellten Mischung. Auf solche Art verdünnte Lymphe bewirkte noch nach Monaten eine prompte Infektion bei Einspritzung in die Blutbahn. Lymphe, welche in eine Mischung von Chlorkalzium und Eis gebracht war und darin etwa 3 Stunden in gefrorenem Zustand bei — 48° gehalten war, infizierte das geimpfte Tier prompt. Das im Blaseninhalt vorhandene Virus wird unwirksam gemacht durch 24stündiges Eintrocknen (auf Holz, Stein, Flanell) bei Zimmertemperatur (22°) und zerstreutem Tageslicht."

Früher schon hatte Schütz nachgewiesen, daß mit virulentem Blaseninhalt imprägnierte Fäden durch Austrocknen in 10 Tagen die Ansteckungsfähigkeit verlieren. Ferner büßte Lymphe, welche im Verhältnis von 1:9 mit 0,9 % Kochsalzlösung verdünnt war, ihre Wirksamkeit durch Erwärmen auf nur 37° nach 12—24 Stunden ein, also bei einfacher Aufbewahrung im Brutschrank. Ein Erwärmen auf 50° wirkte in 10 Minuten und Erhitzen auf 100° augenblicklich abtötend.

Einzelne Lymphesorten ergaben nach Kitt Abweichungen insoferne, als sie bei ½stündiger Erwärmung auf 50 bis 60° noch infektionsfähig blieben. Wenig widerstandsfähig war die Lymphe gegen Desinfektionsmittel wie 1%ige Karbolsäurelösung; 2%ige Formaldehydlösung, 3%ige Sodalösung, 1%ige HCl-Lösung hoben die Virulenz nach 60 Minuten dauernder Einwirkung auf.

Tierarzt Hecker (6) teilt mit, daß die Virulenz der Lymphe schon bei verhältnismäßig niederen Temperaturen zerstört wird. Nach Hecker zeigte sich Lymphe, welche mehrere Tage bei Zimmertemperatur gehalten wurde, nicht mehr virulent.

Löffler und Frosch (7) schreiben: Durch Erwärmen auf 37° während 12 Stunden und auf 70° während ½ Stunde wird die Lymphe unwirksam gemacht; ebenso durch 24stündiges Eintrocknen bei Sommertemperatur. Im Eisschrank aufbewahrt hält sich die in Kapillaren eingeschmolzene Lymphe 14 Tage wirksam, bisweilen auch länger; einzelne Keime können noch nach 8—9 Wochen am Leben sein.

Nach Löffler (2) hielten sich Lymphproben, in unverdünntem Zustand in Glaskapillaren eingeschmolzen und bei Zimmertemperatur bezw. im Eisschrank bei —10° unbelichtet aufbewahrt, monatelang virulent.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde möglichst frische Lymphe im Verhältnis 1:4 mit einer Lösung Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen verdünnt und im Eisschrank unbelichtet aufbewahrt. Auch bei dieser Methode erhielt sich das Virus monatelang virulent. Eine Mischung der Lymphe mit 0,9 %iger Kochsalzlösung führte zu gleichem Ergebnis. Löffler hat außerdem eine Reihe weiterer Versuche vorgenommen, um die Resistenz des Maul- und Klauenseuchevirus gegenüber der Einwirkung verschiedener Temperaturgrade und gegen Eintrocknung festzustellen. Zu diesem Zweck nahm er Lymphe, deren Virulenz durch einen Kontrollversuch erwiesen war, und verdünnte sie mit 0,9 %iger Kochsalzlösung im Verhältnis 1:9 und setzte diese Mischung in Glaskapillaren oder engen Reagenzgläsern verschiedenen Temperaturen aus. Es zeigte sich dabei, daß der 12—24stündige Aufenthalt im Brutraum von 37,5° ihre Virulenz aufhob. Ebenso verlor Lymphe, die 1 Stunde und 20 Minuten bei 45 bis 50° gehalten war, ihre Virulenz, desgleichen Lymphe, die 15 Minuten auf 50°, 10 Minuten auf 70° und einen Augenblick auf 100° gebracht worden war.

Im Institut für Infektionskrankheiten ist Lymphe, die ½ Stunde auf 50° erwärmt worden war, noch infektionsfähig gewesen. Lymphe, die in eine Mischung von Chlorkalzium und Eis gebracht und etwa 3 Stunden darin in gefrorenem Zustand bei —48° gehalten worden war, infizierte das geimpfte Tier prompt.

Gegen Eintrocknen scheint die Lymphe nur geringe Widerstandsfähigkeit zu besitzen, da dieselbe, wenn sie auf einer sterilen Platte im Exsikkator über H_2SO_4 im Vakuum

bei etwa 22° Zimmertemperatur 18 Stunden eingetrocknet war, das damit infizierte Tier nicht mehr krank zu machen imstande war. Auf Holz, Stein, Flanell bei Zimmertemperatur und zerstreutem Tageslicht eingetrocknete Lymphe war ebenfalls bereits nach 24 Stunden unwirksam geworden.

Auch gegen Desinfektionsmittel ist die Lymphe wenig widerstandsfähig. Bei Konservierung der Lymphe hat sich gezeigt, daß sie sich bakterienfrei filtriert 3—4 Monate im Eisschrank wirksam erhält. Zusätze von Phenol, Thymol und auch von 0,5 %igem Karbol sind dabei ohne besondere Bedeutung. Lymphe im Verhältnis 1 : 10 mit Wasser verdünnt und bakterienfrei filtriert, war trotz Zusatzes von 1%iger Karbollösung noch nach 11 Wochen wirksam.

Hecker (8) veröffentlichte später Versuche über die Tenazität des Virus in Jauche und Dünger; zur Untersuchung gelangten:

1. frischer, durch Bakterienfilter gereinigter, virulenter Bläscheninhalt,
2. nichtfiltrierter Bläscheninhalt,
3. Maulspeichel von frisch erkrankten Tieren,
4. Maulspeichel vermischt mit Lymphe und teils sterilisierter, teils nichtsterilisierter Jauche bezw. Düngerstoffen.

Diese Proben wurden in Röhrchen verschieden tief in frischem Kuh- bezw. Schweinedünger mit einem Maximalthermometer gelegt und zwar in Tiefen von 20, 40 u. 60 cm. Nach 3, 6 und 9 Tagen wurde der Inhalt der Röhrchen auf seine Virulenz geprüft, das Resultat war überraschend. Zunächst wurde eine bedeutende Temperatursteigerung beobachtet, welche bei frischem, mittelfestliegendem Dünger in einer Tiefe von 40 cm im Durchschnitt 70° im Sommer und 53° im Herbst nach 3 Tagen betrug. Die Infektionsversuche ergaben, daß nur in 1 Röhrchen mit reinem, nichtfiltrierten Aphtheninhalt, welches 20 cm tief im Dünger gelegen war, die Infektion eines Stieres gelang. Das Kontagium in allen übrigen Röhrchen war nicht mehr infektionsfähig.

Löffler (9) ergänzt wiederholt seine früheren Mitteilungen. Es ist weiter dargetan, daß das Virus durch Eintrocknen rasch zugrunde geht, daß es sich aber bei niedriger

Temperatur feucht aufbewahrt monatelang lebend erhalten kann. Durch eingehende Versuche ist festgestellt, daß eine 5 Minuten währende Einwirkung einer Temperatur von 60° die Erreger in Flüssigkeiten abtötet und, was namentlich praktisch für Molkereien sehr wissenswert ist, daß eine Erwärmung bis 85° die Ansteckungsfähigkeit einer mit Lymphe infizierten Milch aufhebt; 24stündiges Austrocknen der Lymphe schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hebt die Ansteckungsfähigkeit auf, jedoch nicht eine Erhitzung auf 50° während ½ Stunde. Halbstündiges Erhitzen auf 60°, 10 Minuten auf 70° und 1—2 Minuten auf 100° hebt die Ansteckungsfähigkeit auf.

Das Virus ist abgetötet, wenn das lymphehaltige Material auf 80° erwärmt wird, bei 60° in 5 Minuten. Ferner erwies sich, daß eine 30 Minuten lange Erwärmung auf 50° nicht genügt. Eine 24stündige, ja schon 12stündige Erwärmung auf 50° vernichtete das Virus (kürzere Zeiten wurden nicht versucht).

Eine 4tägige auf 39—46° erwärmte Lymphe erwies sich als abgetötet, ebenso machte eine 3tägige Erwärmung auf 37° das Virus unwirksam. In einigen Versuchen war das Virus schon nach 12stündiger Erwärmung auf 37° abgetötet. Schon durch 30° wird es bei 9tägiger Einwirkung unwirksam.

Nocard (10) wies nach, daß die Kälte keinen Einfluß auf die Lymphe ausübte. Er entnahm den Inhalt der Aphthen und bewahrte ihn in zugeschmolzenen Glaskapillarröhrchen auf. Die eine Hälfte der Röhrchen wurde bei 8° gehalten, die andere kam in den Kühlraum, in dem eine ständige Temperatur von —12 bis —15° herrschte. Beide Virussorten wurden so 2 Monate lang konserviert. Nach dieser Zeit wurden mit denselben 2 Schafe geimpft. Das mit dem bei 8° aufbewahrten Virus geimpfte erkrankte am 5. Tag, das mit dem bei —12 bis —15° aufbewahrten Virus geimpfte ebenfalls am 5. Tag. Daraus schließt Nocard, daß die Kälte auf das Maul- und Klauenseuchevirus gar keinen Einfluß ausübt, während Peroncito der gegenteiligen Ansicht ist; nach ihm besteht eine hohe Kälteempfindlichkeit.

Nach Cosco und Aguzzi (12) ist defibriniertes Blut nach 1monatlicher Aufbewahrung im Eisschrank noch virulent.

Nach Roux (13) betrug die Infektiosität mehrere Monate, nach de Blieck (14) 4 Monate und nach Giens 5 Monate. Nach Lebailly (15) ist mit Natriumcitratlösung versetztes Blut, das bei —4 bis —8° aufbewahrt wurde, trotz mehrmaligen Auftauens und Gefrierens noch nach 72 Tagen virulent gewesen.

Auf Grund der verschiedenen Ansichten und Versuchsergebnisse einzelner Forscher hat die Veterinärpolizeiliche Anstalt in Schleißheim nach eigenen Vorversuchen Roßkopf (11) beauftragt, festzustellen, wie das Maul- und Klauenseuchevirus sich bei natürlichen Verhältnissen wie Austrocknung, Kälte, Wärme und Fäulnis verhält. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit ist das Virus ähnlich wie andere filtrierbare Infektionserreger gegen Fäulnis ziemlich resistent (38—77 Tage), Erwärmung auf 37° schädigt es nur wenig, bei 50° ist es noch nach 2 Stunden lebend, nach 3 Stunden abgestorben. Sonnenstrahlen töten feuchtes Virus unter Umständen in 10 Stunden nicht, Austrocknen schädigt es erst nach 5—11 Tagen. Glyzerin konserviert auch das Maul- und Klauenseuchevirus, es war bei Zusatz von 50 % und 33 % noch nach 85 Tagen virulent, besonders betont wird die große Resistenz gegen Fäulnis.

Zeheter (16) stellte fest, daß die Tenazität des Virus im Blutserum parallel geht mit der Virulenz des Blutserums. Sie ist am höchsten in der Zeit von 12 bis 30 Stunden nach der Infektion des Viruslieferanten. An dem Sinken der Tenazität von Virus, das nach dem Höhepunkt der Virusentwicklung im Blut entnommen wird, sind spezifische Antistoffe schuld.

Nach Ernst (17, 18) sinkt die Virulenz des Aphtheninhalts mit dem Alter der Aphthen. Sie wird bei dem Inhalt von ganz jungen bis zu 24 Stunden alten Aphthen sehr hoch, um dann langsam zu sinken. 4 Tage nach der Impfung vermochte der frische Aphtheninhalt zwar noch bei kutaner Impfung, nicht aber bei intraperitonealer Eingabe selbst hoher Dosen Erkrankungen hervorzurufen.

Durch Austrocknen wird nach Roux, Vallée, Carrée und Nocard (19) das Virus nicht, wie man bisher annahm, schnell abgetötet; im luftleeren Raum auf Glasplatten getrocknete Lymphe war für Schweine noch nach 7, 11 und 18 Tagen virulent.

Trautwein (20) untersuchte die Tenazität des Virus in der Außenwelt und zwar Lymphevirus und Aphthendeckenvirus. Das Lymphevirus blieb je nach dem Substrat und der Aufbewahrung 5—11 Tage infektionsfähig, das Aphthendeckenvirus erwies sich als wesentlich resistenter und bewahrte seine Infektionstüchtigkeit bis zu 67 Tagen.

Untersuchungen über die Virulenz der Blasenlymphe stellte Toshio Abe (21) an. Die Virulenz erreicht schon innerhalb 24 Stunden ihren höchsten Punkt und die höchste Virulenz scheint bis zu 48 Stunden anzuhalten, um sich dann allmählich immer mehr zu vermindern; am 5. bis 6. Tag geht die Lymphe zugrunde.

v. Ostertag (22) zitiert Feststellungen der englischen Maul- und Klauenseuchekommission, wonach die Infektionstüchtigkeit des Blutes geschlachteter maul- und klauenseuchekranker Schweine bis zu 36 Tagen und die des Knochenmarkes bis zu 76 Tagen besteht im Gegensatz zum reinen Muskelfleisch, wo das Virus bereits nach 24 Stunden abstirbt.

Zeheter nahm von infizierten Meerschweinchen 6, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 und 93 Stunden nach der Infektion Blut ab, konservierte das gewonnene Serum mit Glycerinum purum im Verhältnis 1 : 3. Das Serum wurde zum Teil sofort nach der Blutentnahme, zum Teil nach einer Aufbewahrungsdauer von 3, 7, 14 und 21 Tagen im Eis verimpft.

Bei Verimpfung gleich nach der Blutentnahme ergaben sich keine Unterschiede in der Virulenz, bei Verimpfung nach 3 Wochen bei Aufbewahrung im Eis war nur die Virulenz bei dem nach 6 und nach 93 Stunden entnommenen Serum geschwunden, bei den übrigen aber noch erhalten.

Das im Eis gehaltene Virus wurde nun nach 21 Tagen in eine Temperatur von 22° übergeführt. Nach 13 Tagen wiesen das 18-, 70- und 80stündige keine Virulenz mehr auf und nach 20 Tagen versagte auch das 50- und 60stündige, zum Teil auch schon das 40stündige. Nach 28 Tagen waren nur mehr die nach 30 Stunden entnommenen Sera infektionstüchtig.

Das 21 Tage in Eis und 28 Tage bei 22° gehaltene Serum wurde dann noch 26 Stunden in Bruttemperatur gebracht, es bestätigte sich auch hier, daß das 30stündige Virus sich am längsten hält.

Nach diesen Versuchen wurden neuerdings Meerschweinchen infiziert und ihnen 12, 36, 60 und 84 Stunden nach der Infektion Blut entnommen und dieses bei 37° aufbewahrt. Nach 12 Stunden Aufbewahrung waren alle Sera noch virulent, das 84stündige aber schwächer, nach 24 Stunden ging letzteres nicht mehr an. Nach 36 Stunden fiel auch das 60stündige aus und nach 48 Stunden war nur mehr das 12stündige virulent, bei diesem blieb die Virulenz bis 72 Stunden erhalten.

Die in der Literatur gegebenen Ausführungen einerseits und die Ergebnisse der Arbeiten von Roßkopf und Zeheter andererseits gaben Veranlassung, weitere Versuche zur Prüfung der Resistenzfrage des Maul- u. Klauenseuchevirus anzustellen. Von besonderer Bedeutung erschien die Frage, inwieweit die in der Lymphe enthaltenen Abwehrstoffe einen Einfluß auf die Haltbarkeit des Maul- und Klauenseuchevirus auszuüben vermögen. Es wurde deshalb die Frage zu klären versucht, ob die Infektionstüchtigkeit durch Ausschaltung der Abwehrstoffe durch künstliche Trocknung länger erhalten werden kann.

Die folgenden beiden Vorversuche I und II wurden nach Angabe des damaligen Direktors der Veterinärpolizeilichen Anstalt Dr. Ernst unter Mithilfe Dreschers von mir durchgeführt.

Ernst (23) schreibt in einer vorläufigen Mitteilung, wenn die Einflüsse der Abwehrstoffe tatsächlich die Resistenz des Virus vorbestimmen, so muß die zur Zeit der Gewinnung aus dem kranken Tier gegebene Virulenz dann tunlichst erhalten bleiben, wenn diese Einflüsse zum Stillstand gebracht werden können. Bei der Glyzerinkonservierung ist dies nicht genügend der Fall. Es konnte aber unter Umständen durch Trocknung geschehen. Ernst und Drescher kamen zur Trocknung über Ätznatron wie bei der Trocknung des fixen Wutvirus, aber im Kühlraum und in mit Wachs zugeschmolzenen Glasröhrchen. Hochvirulentes Material hielt sich so bereitet und aufbewahrt in absolut trockenem Zustand bis zu 100 Tagen, das 3tägige Material über 50 Tage. Die Versuche waren noch nicht beendet, es kann damit das Virus fixe der Maul- und Klauenseuche in eine versandfähige und für praktische Verwendung haltbare Form gebracht werden.

Vorversuch I.

Am 10. 10. 1923 wurde 24stündiges Maul- und Klauenseuchevirus an die Meerschweinchen 3080, 3081 und 3082 hinten beiderseits intrakutan verimpft und diesen am 11., 12. und 13. 10. nach 24, 48 und 72 Stunden die Sohlen abgenommen und in Agglutinationsröhrchen gebracht. Pro Sohle wurden je 2 ccm Glyzerin-Kochsalzlösung dazu gegeben und die Röhrchen in den Kühlraum gebracht und vor Licht geschützt aufbewahrt. Diese so aufbewahrten Aphthendecken wurden erstmals am 15. 10. 23 nach 4-, 3- und 2tägigem Aufenthalt im Kühlraum je an 1 Meerschweinchen verimpft. Es wurde jeweils ¼ Sohle im Mörser verrieben und 0,5 ccm der Glyzerin-Kochsalzlösung zugegeben. Mit dieser Emulsion wurden die Meerschweinchen hinten beiderseits intrakutan geimpft.

Die in Glyzerin-Kochsalzlösung konservierten Aphthendecken sind noch nach 91, 90 und 89 Tagen infektionstüchtig gewesen. Ein Unterschied in der Virulenz tritt in dieser Zeit bei den 24- und 48stündigen Sohlen nicht, dagegen bei den 72stündigen schon nach kurzer Zeit eine Verzögerung der Generalisierung der Infektion ein. Eine Weiterführung des Versuches war infolge Verbrauches des Impfmaterials nicht möglich.

Vorversuch II.

Der Vorversuch II wurde durchgeführt zur Prüfung, ob durch Ausschaltung der Abwehrstoffe mittels künstlicher Trocknung eine Verlängerung der Infektionstüchtigkeit des Virus erzielt werden kann.

Am 20. 12. 23 wurden die Meerschweinchen 3295 u. 3296 hinten beiderseits intrakutan infiziert und ihnen nach 24 Stunden die Sohlen abgenommen. In ein Reagenzglas wurden 20 Gramm Kalium causticum gebracht, über dieses eine Schicht Watte gelegt und darauf die frisch abgezogenen Aphthendecken ausgebreitet. Das Glas wurde mit einem gutsitzenden Gummistopfen verschlossen, mit Wachs abgedichtet und in den Kühlraum gebracht. Am 24. 12. 23, nach 3 Tagen, wurde eine Sohle entnommen, sie erwies sich bereits als eingetrocknet und ließ sich im Mörser fast vollkommen zerkleinern; das zerkleinerte Material wurde mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und damit

1 Meerschweinchen hinten beiderseits intrakutan geimpft. Bei den nachfolgenden Impfungen wurde jeweils eine viertel Sohle + 0,5 ccm Kochsalzlösung verwendet.

Die über Kalium causticum getrockneten 24stündigen Aphthendecken vermochten bei Aufbewahrung im Kühlraum noch nach 168 Tagen bei den geimpften Meerschweinchen eine generalisierte Infektion hervorzurufen.

Durch die beiden Vorversuche war erwiesen, daß die Resistenz des Maul- und Klauenseuchevirus bei entsprechender Aufbewahrung, Konservierung durch Trocknen oder durch Glyzerinwasser eine ganz außerordentliche ist. Schon bei Kälte getrocknetes Material hielt sich entgegen der bisher allgemein herrschenden Ansicht bei Kühlraumtemperatur 168 Tage. Dieser Versuch konnte nicht weiter durchgeführt werden, da das getrocknete Material ausging.

Nachdem das im Vorversuch I und II verwendete Material vorzeitig ausgegangen war, wurden neuerdings Versuche in größerem Umfange mit getrockneten Aphthen angesetzt. Es wurde 1-, 2- und 3tägiges Virus bei Aufbewahrung unter verschiedenen Temperaturen verwendet.

Versuch I, II, III, IV.

Am 13. 1. 24 wurden nachmittags 2 Uhr die Meerschweinchen 3330 und 3331 hinten beiderseits intrakutan mit 24stündigem Virus geimpft und ihnen am 14. 1. 24 nach 24 Stunden die Sohlen abgenommen, diese wurden im Mörser verrieben und mit je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung pro Sohle versetzt und 20 Minuten zentrifugiert. Mit dem zentrifugierten Virus wurden am 14. 1. 24 die Meerschweinchen 3334 bis 3345 hinten beiderseits intrakutan geimpft. Am 15. 1. 24 wurden nach 24 Stunden den Meerschweinchen 3334 bis 3337 die Sohlen abgenommen und diese analog dem Vorversuch II in Reagenzgläser mit Kalium causticum gebracht. Je die Hälfte der so behandelten Aphthendecken wurden in dem Kühlraum und in einem Brutschrank von 22° aufbewahrt. Am 16. 1. 24 nachmittags 2 Uhr wurden den Meerschweinchen 3338 bis 3341 die 48 Stunden alten Sohlen abgenommen und ebenso wie die 24stündigen behandelt. Am 17. 1. 24 wurden den Meerschweinchen 3342 und 3345 nach 72 Stunden die Sohlen

abgenommen und in gleicher Weise wie die 24- und 48stündigen aufbewahrt.

Am 21.1.24 wurden je ¼ Sohle des 1-, 2- u. 3tägigen Virus aus dem Kühlraum und aus dem Brutschrank von 22° mit je 0,5 ccm NaCl-Lösung im Mörser verrieben und an je 1 Meerschweinchen verimpft. Um ein vorzeitiges Ausgehen des Impfmaterials zu vermeiden, wurden am 25. 7. 24 vormittags 10 Uhr Meerschweinchen 3877 mit 24stündigem Glyzerinsohlenvirus von Meerschweinchen 3756 hinten beiderseits intrakutan geimpft, die Sohlen wurden am 26. 7. 24 nach 24 Stunden abgenommen, mit 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und 20 Minuten zentrifugiert. Mit dem Zentrifugat wurden 16 Meerschweinchen intrakutan geimpft. Am 27., 28., 29. und 30. 7. 24 wurden von je 4 Meerschweinchen die Sohlen abgenommen und auf diese Weise 1-, 2-, 3- und 4tägiges Virus gewonnen. Je 6 Sohlen wurden in der bei Vorversuch II beschriebenen Art in Reagenzgläser mit Kalium causticum gebracht und im Kühlraum bis zur Trocknung 24 Stunden aufbewahrt, hernach wurden sie der Wirkung von 37° verschieden lange Zeit ausgesetzt. Die bei jeder Virusart überbleibenden 2 Sohlen wurden bei Zimmertemperatur (18—20°) vor Licht geschützt in offenen Petrischalen der Austrocknung überlassen.

Ergebnis der Versuche I, II, III u. IV.

Alter des Virus (in Tagen)	Art der Aufbewahrung	Dauer der Infektionsfähigkeit (in Tagen)
1	Kühlraum	670
1	22°	249
1	37°	125
1	Zimmertemperatur	11
2	Kühlraum	532
2	22°	177
2	37°	88
2	Zimmertemperatur	9
3	Kühlraum	241
3	22°	144
3	37°	43
3	Zimmertemperatur	6
4	37°	7
4	Zimmertemperatur	0

Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche I, II, III und IV.

Bei diesen Versuchen ergab sich ein großer Unterschied in der Tenazität:

1. je nach den Tagen der Abnahme des Virus post infectionem;
2. je nach der Aufbewahrung bei verschiedenen Temperaturen.

Die größte Tenazität hatte das Virus, das 24 Stunden nach der Infektion abgenommen worden war; es gelang mit diesem noch nach 670 Tagen Aufbewahrung bei kühler Temperatur in trockenem Zustand eine Infektion hervorzurufen, wenn sich auch nach dieser Aufbewahrung eine deutliche Abschwächung zeigte, die Aphthe entwickelte sich erst nach 3 Tagen und die Erkrankung blieb lokal. Dasselbe Virus war noch nach 640 Tagen, also 30 Tage früher, imstande eine generalisierte Erkrankung hervorzurufen. Der Unterschied zwischen der Tenazität des 24- und 48stündigen Virus beträgt 138 Tage. Das 24stündige hielt sich 670 Tage, das 48stündige 532 Tage. Ein wesentlich rascherer Abfall tritt bereits bei dem 72stündigen Virus ein, mit diesem gelang die Infektion noch nach 247 Tagen, der Unterschied in der Infektionsfähigkeit zwischen letzterem und dem 48stündigen beträgt bereits 285 Tage. Bei Abnahme nach 96 Stunden scheinen die viruliziden Stoffe bereits in derartiger Menge vorhanden zu sein, daß keine Infektionstüchtigkeit mehr besteht. Es gelang schon am Tage nach der Abnahme des Virus und bei Aufbewahrung bei 37 ° C. nicht mehr eine Infektion hervorzurufen.

Einen außerordentlich großen Einfluß auf die Tenazität hat neben dem Zeitpunkt der Abnahme des Virus die Temperatur, in der dasselbe aufbewahrt wird. Am längsten bleibt die Tenazität bei Kühlraumtemperatur erhalten, sowohl bei dem nach 24 wie auch bei dem nach 48 und 72 Stunden abgenommenen Virus. Diese sinkt bereits bei dem nach 24 Stunden abgenommenen von 670 Tagen bei Kühlraumtemperatur auf 249 Tage bei Aufbewahrung bei 22 °, bei dem nach 48 Stunden abgenommenen von 532 auf 177 Tage, bei 76 Stunden von 247 auf 141 Tage. Ebenso ist ein großer Unterschied bei Aufbewahrung bei 22 ° und 37 °. Die Dauer der Infektionstüchtigkeit sinkt hier bei 24-, 48-

und 72stündigem Virus von 249, 177 und 141 Tagen auf 125, 88 und 44 Tage.

Bei den unter natürlichen Verhältnissen bei Zimmertemperatur getrockneten Sohlen ist die Tenazität gegenüber den über Kalium causticum bei 22° sehr rasch getrockneten eine sehr geringe; die Gründe dafür werden zum Teil in der Art der Trocknung und zum Teil vielleicht in den Temperaturschwankungen, denen die ersteren durch das Aufbewahren im Zimmer ausgesetzt waren, während letztere sich in einer konstanten Temperatur von 22° befanden, liegen.

Versuch V und VI.

Die Versuche V und VI gewähren einen Überblick, wie sich gleichzubeurteilendes Virus bei der bisher üblichen Aufbewahrung in Glyzerin-Kochsalzlösung verhält. Sie sind demnach Kontrollen für Glyzerinvirus im Vergleich zum Trockenvirus.

Am 28. 6. 24 wurde 24stündiges Glyzerinsohlenvirus von Meerschweinchen 3756 nach 6tägiger Aufbewahrung im Kühlraum an Meerschweinchen 3773 hinten beiderseits intrakutan verimpft. Am 29. 6. wurden die Sohlen von 3773 nach 24 Stunden abgenommen und an Meerschweinchen 3774 bis 3776 verimpft. Diesen wurden wieder die Sohlen nach 24 Stunden am 30. 6. abgenommen, pro Sohle 2 ccm physiologische Kochsalzlösung zugegeben und 20 Minuten zentrifugiert, das Zentrifugat wurde an 80 Meerschweinchen hinten beiderseits intrakutan verimpft.

Am 1. 7. 24 wurden 6 von den 80 Meerschweinchen die Sohlen nach vorhergehender Reinigung mit Kochsalzlösung abgenommen und jede Sohle einzeln in 2 ccm Glyzerin-Kochsalzlösung gebracht. Je 6 Sohlen wurden im Kühlraum und im Brutraum bei 37° aufbewahrt. Am 2., 3. und 4. 7. wurden ebenfalls je 6 Meerschweinchen nach 48, 72 und 96 Stunden die Sohlen abgenommen und auf die gleiche Weise wie die 24stündigen konserviert und aufbewahrt. Bei den folgenden Impfversuchen wurde jeweils ¼ Aphthendecke mit 0,5 ccm Glyzerin-Kochsalzlösung aus demselben Glasröhrchen im Mörser verrieben und hinten beiderseits intrakutan verimpft. Die 3- und 4tägigen Aphthendecken wurden erstmals gleich nach der Abnahme frisch verimpft.

Ergebnis der Versuche V und VI.

Alter des Virus (in Tagen)	Art der Aufbewahrung	Dauer der Infektionsfähigkeit (in Tagen)
1	Kühlraum	254
1	37°	3
2	Kühlraum	234
2	37°	5
3	Kühlraum	162
3	37°	1
4	Kühlraum	110
4	37°	0

Versuch VII und VIII.

Ebenso wie die Versuche V u. VI bezwecken auch die Versuche VII u. VIII einen Vergleich zwischen den bisherigen Versuchen über die Haltbarkeit des Trockenvirus mit Virus, das in Glyzerin-Kochsalzlösung aufbewahrt den biologisch-chemischen Schädigungen solcher Aufbewahrung ausgesetzt ist. Wieder wird 1-, 2-, 3- und 4tägiges Virus im Kühlraum und bei 37° aufbewahrt und außerdem ein Unterschied im Versuch der Art gemacht, daß in einem Falle die ganze Sohle in Glyzerin-Kochsalzlösung eingelegt wurde, während im anderen Falle im Versuch VII und VIII lediglich die Reibesäfte von Sohlenaphthendecken verwendet wurden. Es wird angenommen, daß bei solchen Reibeflüssigkeiten, die klar zentrifugiert sind, die Einwirkung schädigender Flüssigkeiten (Lysine?) und Glyzerin, vielleicht auch Kochsalzlösung, stärker hervortreten, wie wenn das Virus noch zwischen und in den Sohlenepithelzellen eingeschlossen ist.

Am 1. 7. 24 wurden weiteren 6 von den am 30. 6. 24 geimpften 80 Meerschweinchen die 12 Sohlen nach 24 Stunden abgenommen, 5 Minuten im Mörser verrieben und 24 ccm Glyzerin-Kochsalzlösung zugesetzt. Nach 20 Minuten langem Zentrifugieren wurde die etwas trübe virushaltige Flüssigkeit abgegossen und je 10 ccm in mit Korkstopfen und Paraffin verschlossenen Reagenzgläsern in den Kühlraum und in den Brutraum von 37° verbracht. Am 2., 3. und 4. 7. wurde von je 6 weiteren Meerschweinchen das 2- und 3tägige Virus in der gleichen Weise gewonnen

und aufbewahrt. Nach 3 Tagen ist die anfängliche Trübung fast gänzlich verschwunden, die suspendierten Flocken haben sich langsam zu Boden gesetzt, es ist ein zirka 0,5 bis 1,0 cm dicker, weiß-grauer Bodensatz entstanden. Die überstehende Flüssigkeit ist stark opaleszierend, beim Aufschütteln des Bodensatzes lösen sich die Flocken vollkommen auf und es entsteht wieder eine gleichmäßig trübe Flüssigkeit.

Ergebnis der Versuche VII und VIII.

Alter des Virus (in Tagen)	Art der Aufbewahrung	Dauer der Infektionsfähigkeit (in Tagen)
1	Kühlraum	293
1	37°	2
2	Kühlraum	278
2	37°	5
3	Kühlraum	161
3	37°	1
4	Kühlraum	49
4	37°	1

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse V, VI, VII und VIII.

Wesentliche Unterschiede zwischen dem in Sohlen eingeschlossenen und dem aufgeschlossenen Virus ergaben sich bei der Aufbewahrung nicht. Lediglich das 4tägige Virus, das als besonders labil zu gelten hat, hielt sich in der Sohle eingeschlossen 110 Tage, in aufgeschlossenem Zustand nur 49 Tage virulent bei Aufbewahrung im Kühlraum. Die Unterschiede, die sich zwischen dem 1-, 2- und 3tägigen Virus ergeben, sind nicht derart hoch, daß man besondere Schlüsse ziehen könnte, immerhin spricht das rasche Verderben des aufgeschlossenen Virus dafür, daß dieses wohl wegen der Vergrößerung der Angriffsfläche etwas weniger haltbar ist als das in der schutzkolloidreichen Sohle verborgene. Im Vergleich mit der Größe der Haltbarkeit von Trockenvirus läßt sich der auch in den Versuchen I, II, III und IV erwiesene Widerstand gegen äußere Einflüsse als ungleich größer feststellen. Die Haltbarkeit des in Glyzerin-Kochsalzlösung konservierten Virus ist im Vergleich zu dem Trockenvirus wesentlich geringer, und zwar:

1. bei Aufbewahrung im Kühlraum und Abnahme des Virus nach 24 Stunden um 56,27 %
   bei gleicher Aufbewahrung und Abnahme nach 48 Stunden um 47,74 %,
   bei Abnahme nach 72 Stunden um 34,82 %;
2. bei Aufbewahrung bei 37° und Abnahme nach 24 Stunden um 98,4 %,
   bei Abnahme nach 48 Stunden um 94,29 %,
   bei Abnahme nach 72 Stunden um 97,73 %.

Ernst führt bekanntlich die verschiedene Resistenz des 1-, 2-, 3- und 4tägigen Virus auf eine Sensibilisierung zurück und kam zu dem Schluß, daß durch Austrocknen die Sensibilisierung ausgeschaltet werden kann, womit eine erhöhte Haltbarkeit der Virulenz gegeben sein muß. Diese Ansicht scheint durch die bisherigen Versuche weiter gestützt.

Versuch IX und X.

Ist die Möglichkeit, Virus bestimmter Virulenz sehr lange aufzubewahren, gegeben, so kann dies von besonderem praktischen Wert für Notimpfungen werden. Für solche praktische Verwendung wäre wieder eine andere Form der Hinausgabe förderlicher als eine solche in Form vertrockneter Sohlen. Wenn die Möglichkeit gegeben ist, das virulente Material in Einzeldosen hinauszugeben, dann hätte der Praktiker eine Verreibung des virushaltigen Materials nicht mehr nötig, sondern er könnte durch einfache Zugabe von Glyzerin-Kochsalzlösung impffertigesVirus in bestimmter Dosis bekommen. Es wurde deshalb im Versuch IX u. X pulverisiertes Virus ohne weitere besondere Vorsicht in mit Wachs zugeschmolzenen Glasröhrchen aufbewahrt, verwendet.

Am 1. 7. 24 erfolgte die Abnahme von 12 Sohlen von 6 Meerschweinchen 24 Stunden nach der Infektion, die Sohlen hatten ein Gewicht von 0,861 g und wurden, wie bei Vorversuch II, über Ätzkali getrocknet und im Kühlraum aufbewahrt. Am 2., 3. und 4. 7. wurden ebenfalls die Sohlen von je 6 Meerschweinchen abgenommen, gewogen und auf gleiche Weise im Kühlraum getrocknet. Das Gewicht gleich nach dem Abziehen betrug 1,254 g bei den 48stündigen, 1,585 g bei den 72stündigen und 1,661 g bei den 96stündigen Aphthendecken.

Nach 4tägiger Trocknung wurden die Sohlen am 5., 6., 7. und 8. 7. neuerdings gewogen, das Gewicht betrug:

bei den 24stündigen = 0,342 g = 39,72 %
„ „ 48 „ = 0,482 „ = 38,44 „
„ „ 72 „ = 0,511 „ = 32,23 „
„ „ 96 „ = 0,588 „ = 36,40 „

Es trat also innerhalb 4 Tagen ein Gewichtsverlust ein:

bei den 24stündigen von 0,519 g = 60,28 %
„ „ 48 „ „ 0,772 „ = 61,56 „
„ „ 72 „ „ 1,074 „ = 67,77 „
„ „ 96 „ „ 1,073 „ 63,60 „

Am 8., 9., 10. und 11. 7. wurde das 1-, 2-, 3- u. 4tägige Virus dem Kühlraum entnommen und neuerdings gewogen, das Gewicht betrug; 0,344 g bzw. 0,468 g bzw. 0,504 g und 0,574 g. Der Gewichtsverlust war somit nur mehr ein ganz geringfügiger innerhalb von 3 Tagen. Die Aphthendecken waren vollkommen trocken und hornartig. Nach der Entnahme aus dem Kühlraum und dem Wiegen wurden die Sohlen jeweils in einer Reibschale zerkleinert und verrieben, bis sich nach ungefähr 30 Minuten ein weiß-graues Pulver bildete. Das Pulver wurde gewogen, halbiert und jede Hälfte in ein mit lockerem Wattestopfen verschlossenes Agglutinationsröhrchen gebracht. Diese Röhrchen wurden in größeren Reagenzgläsern, die je 20 g Kalium causticum enthielten, aufbewahrt; die Reagenzgläser wurden mit Korkstopfen und Paraffin verschlossen. Je 1 Glas des 1-, 2-, 3- und 4tägigen Virus wurde in den Kühlraum und in den Brutraum von 37° gebracht.

Das Gewicht nach dem Pulverisieren betrug:

bei dem 1tägigen Virus = 0,307 g
„ „ 2 „ „ = 0,402 „
„ „ 3 „ „ = 0,480 „
„ „ 4 „ „ = 0,498 „

Der Gewichtsverlust durch das Pulverisieren betrug demnach:

bei dem 1tägigen Virus = 0,037 g = 10,85 %
„ „ 2 „ „ = 0,066 „ = 14,03 „
„ „ 3 „ „ = 0,024 „ = 4,76 „
„ „ 4 „ „ = 0,076 „ = 13,24 „

Bei den nunmehr erfolgenden Impfungen wurde jeweils die ¼ Sohle entsprechende Gewichtsmenge des Pulvers genau abgewogen und mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben, hinten beiderseits intrakutan verimpft. Das Gewicht des ¼ Sohle entsprechenden Pulvers betrug:

bei dem 1tägigen Virus = 0,0063 g
„ „ 2 „ „ = 0,0084 „
„ „ 3 „ „ = 0,0100 „
„ „ 4 „ „ = 0,0104 „

Ergebnis der Versuche IX und X.

Alter des Virus (in Tagen)	Art der Aufbewahrung	Dauer der Infektionsfähigkeit (in Tagen)
1	Kühlraum	568
1	37°	44
2	Kühlraum	396
2	37°	19
3	Kühlraum	123
3	37°	5
4	Kühlraum	4
4	37°	0

Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche IX und X.

Nach den Versuchen IX und X erscheint die Pulverisierung als ein ungeeignetes Mittel virulentes Impfmaterial in praktisch verwendbare Form zu bringen. Solches Material ändert seine Virulenz zu rasch und die Erhaltung eines bestimmten Virulenzgrades ist doch der Zweck der Trocknung. Die weniger lang im Verhältnis zu den im ganzen aufbewahrten Sohlen dauernde Resistenz des pulverisierten Virus dürfte auf verschiedene Umstände zurückzuführen sein. Durch die Pulverisierung wird eine große Oberfläche geschaffen, es tritt eine Vervielfachung der immerhin beim Trockenvirus noch möglichen Schädigungen, z. B. Oxydation und vielleicht eine Minderung des Einflusses der Schutzkolloide im Horn ein. Es wären daher noch weitere Versuche notwendig — Aufbewahrung im luftleeren Raum — in anderen Gasen, z. B. Stickstoff.

Übersichtstabelle zu den Versuchen I—X.

Alter des Virus (in Tagen)	Art der Aufbewahrung	Dauer der Infektionsfähigheit (in Tagen)			
		Trocken-sohlen	Glycerin-sohlen	Glycerin-virus **ohne Sohlen**	Trocken-pulver
1	Kühlraum	670	254	293	568
2	„	532	234	278	396
3	„	247	162	161	123
4	„	—	110	49	4
1	22°	249	—	—	—
2	„	177	—	—	—
3	„	141	—	—	—
4	„	—	—	—	—
1	37°	125	3	2	44
2	„	88	5	5	19
3	„	44	1	1	5
4	„	0	0	1	0
1	Zimmertemperatur	11	—	—	—
2	„	9	—	—	—
3	„	3	—	—	—
4	„	0	—	—	—

Zusammenfassung:

I. Wie bereits Schütz festgestellt hat, bestehen in der Resistenz des Maul- und Klauenseuchevirus je nach dem Alter der Aphthen, aus denen das Material stammt, große Verschiedenheiten. Diese Verschiedenheit macht sich auch in der Virulenz des Virus bemerkbar; der Rückgang der Virulenz und Resistenz ist nicht, wie man früher vermutet hat, durch die in älteren Aphthen vorgefundenen Begleitbakterien bedingt, sondern entspricht einem biologischen Gesetz und entspringt, wie Ernst meint, wahrscheinlich aus der mit dem Fortschreiten der Infektionskrankheit ebenfalls fortschreitenden und vermehrten Bildung von Antistoffen, einer Sensibilisation.

II. Ist das rasche Sinken der Haltbarkeit wenig virulenten Materials durch Sensibilisation bedingt, so kann der Vorgang der Sensibilisation durch künstliche Einwirkung unterbrochen werden. Als Mittel, diese Unterbrechung herbeizuführen, scheint Trocknung bis zur Gewichtskonstanz bei kühler Temperatur geeignet. Trocken und kühl aufbewahrtes Virus, das zur Zeit der Trocknung höchstvirulent

war, hielt sich 670 Tage, schwächer virulentes Virus unter gleichen Verhältnissen 532 Tage, mäßig virulentes 247 Tage. In flüssigem Zustand aufbewahrtes gleichwertiges Virus zeigte eine Tenazität von 293 bzw. 278 und 161 Tagen.

Durch vergleichsweise Untersuchungen über die Tenazität von Virus verschiedener Virulenz, Aufbewahrung bei verschiedenen Temperaturen und in verschiedenem Zustand ist erwiesen, daß die Trocknung von ganzen Gewebsstücken, die Virus enthalten, über Ätznatron bei kühler Temperatur das beste Mittel ist, um die zur Zeit der Trocknung vorhandene Virulenz tunlichst lange Zeit zu erhalten.

Literaturverzeichnis.

1. Kolle und Hetsch (1911): Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten.
2. Löffler und Frosch: Summarischer Bericht über das Ergebnis der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. D. T. W 1898 S. 16 und S. 333.
3. Peroncito: Der Einfluß der Kälte auf das Aphthenseuchevirus. B. T. W. 1905 S. 851.
4. Löffler: Verbreitung der Maul- und Klauenseuche und der gegenwärtige Stand ihrer Bekämpfung. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde 1914 Bd. 40 S. 307.
5. Kitt: Sammelreferat. Monatshefte für prakt. Tierheilkunde 1899 Bd. 10 S. 40 u. S. 80.
6. Hecker: B. T. W. 1897 S. 469.
7. Löffler und Frosch: D. M. W. 1897.
8. Hecker: Untersuchung über die Abtötung des Kontagiums der Maul- und Klauenseuche im Dünger und in Tiefställen. B. T. W. 1899 S. 6.
9. Löffler: Versuche über Abtötung des Ansteckungsstoffes der Maul- und Klauenseuche in vorschriftsmäßig gepacktem Dünger. B. T. W. 1913 S. 113.
10. Nocard: Einwirkung der Kälte auf das Virus der Maul- und Klauenseuche. D. T. W. 1898 S. 319.
11. Roßkopf: Beitrag zur Frage der Widerstandsfähigkeit des Virus der Maul- und Klauenseuche gegen äußere Einflüsse. Inaugural-Dissertation München 1922.
12. Cosco und Aguzzi: Studi sperimentali sull'afta epizootica. Milano 1922. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkde. u. Infektionskrankheiten 1923 Bd. 74 Ref. S. 252.
13. Roux, zitiert nach Gins und Krause: Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie. 1924. S. 822.
14. De Blieck, zit. nach Trautwein: Rapport omtrent onderzoekungen betreffende mond-en klamozeer. Utrecht 1922.
15. Lebailly: Conservation du virus aphtheuse par le froid. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkde. u. Infektionskrankheiten 1922 Bd. 73 Ref. S. 160.
16. Zeheter: Zur Frage der Ursachen der verschiedenen Resistenz von Maul- und Klauenseuchevirus verschiedener Herkunft. Inaugural-Dissertation München 1922.
17. Ernst: Weitere Beiträge zur Schutzimpfung der Maul- und Klauenseuche. M. T. W. 1921 S. 777.
18. Ernst und Drescher: Weitere Mitteilungen zur Maul- und Klauenseuchefrage. M. T. W. 1922 S. 550.
19. Roux, Vallée, Carrée und Nocard: Zusammenfassung über Maul- und Klauenseuche. B. T. W. 1922 S. 293.

20. Trautwein: Versuche zur Tenazität des Maul- u. Klauenseuchevirus in der Außenwelt. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde 1926 Bd. 54 S. 273.
21. Toshio Abe: Weitere Beiträge zur Schutzimpfung bei Maul- und Klauenseuche. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten 1925 Bd. 28 S. 111.
22. v. Ostertag: Aufsehenerregende Feststellungen über ungewöhnlich lange Tenazität des Virus der Maul- und Klauenseuche im Blut und im Knochenmark seuchenkranker Tiere. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 1927 Heft 16 S. 273.
23. Ernst: Die Herstellung von Virus fixe der Maul- und Klauenseuche. D. T. W. 1924 S. 223.

Am Schlusse meiner Arbeit gestatte ich mir, Herrn Professor Dr. Ernst für die Überlassung des Themas, sowie für die gütige Anleitung und Beratung während der Arbeit, ebenso wie Herrn Direktor Dr. Drescher für die liebenswürdige Unterstützung bei Ausführung der Versuche meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Am 7. November 1892 wurde ich, Paul Schlumprecht, als Sohn des Heinrich Schlumprecht und seiner Ehefrau Katharina Schlumprecht, geb. Rehlen, in München geboren und besuchte dortselbst die Volksschule und das Humanistische Gymnasium. Vom Wintersemester 1911 bis zum Kriegsausbruch widmete ich mich dem Studium der Tierheilkunde, vom Oktober 1914 bis Dezember 1918 machte ich den Feldzug mit. Im Juli 1916 legte ich die Approbation zum Tierarzt ab, im Oktober 1921 die Prüfung für den tierärztlichen Staatsdienst. Vom Januar 1921 bis September 1922 war ich im Staatsministerium des Innern beim tierärztlichen Referat tätig, seit 1. Oktober 1922 bin ich als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter an der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim angestellt.